云　南　植　物　研　究　2008, 30 (1): 76～88
Acta Botanica Yunnanica　DOI: 10.3724/SP. J. 1143. 2008. 07119

试论种子顽拗性的复合数量性状特征*

文　彬
(中国科学院西双版纳热带植物园，云南 勐腊　666303)

摘要：文章简要概述了从顽拗型种子到顽拗性种子这样一个对顽拗性种子认识提高的过程，在综述了前人关于顽拗性种子数量性状特征论述的基础上，把种子顽拗性的数量性状特征划分为种间、种内和个体发育三个层面，提出种子顽拗性是一种复合性状，其核心至少包括脱水耐性、低温耐性和贮藏耐性三方面的内容，其伴随性状包括种子尺度、千粒重、初始含水量、休眠特性、分类地位、地理分布和保护性物质含量等多方面的内容，而且这些核心内容和伴随性状的每一个方面都具有渐变的、过渡的、数量型的特征，从而阐明种子顽拗性是一种复合数量性状。种子顽拗性的复合数量性状特征的提出及其三个层面的划分，有助于加深对种子顽拗性的认识，并用以指导我们在实践中解决种子顽拗性方面的具体问题。

关键词：顽拗性种子；种子顽拗性；复合数量性状；顽拗性连续谱
中图分类号：Q 945　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0253-2700 (2008) 01-076-13

On the Compound Quantitative Characteristic Trait of Seed Recalcitrance

WEN Bin
(*Xishuangbanna Tropical Botanical Garden*, *Chinese Academy of Sciences*, Mengla 666303, China)

Abstract: This paper epitomized the evolution of concept of seed recalcitrance. After reviewing the previous dissertation on quantitative characteristic trait of recalcitrant seeds, three aspects of quantitative characteristic trait of seed recalcitrant were defined, which are interspecific aspect, intraspecific aspect and individual developmental aspect. And it was supposed that seed recalcitrance was a compound characteristic, with its core composed of desiccation tolerance, low-temperature tolerance and storage tolerance at least, and its concomitants composed of seed size, 1000-seed weight, moisture content at shedding, non-dormancy, systemic taxonomy, ecological and biochemical aspects. Because these core and concomitants are all gradual, transitional and quantitative, it was inferred that seed recalcitrance was a compound quantitative trait. The viewpoint that seed recalcitrance is a compound quantitative trait is a new and further cognition, which will be a help for studying causes and resolve of seed recalcitrance on species-specific basis.

Key words: Recalcitrant seeds; Seed recalcitrance; Compound quantitative characteristic; Continuum of recalcitrant seeds

1　顽拗性种子的由来和种子顽拗性连续谱的建立

种子生命力方程 (Roberts, 1972) 的建立和顽拗性种子 (Roberts, 1973) 概念的提出，是上个世纪种子科学领域最为重要的事件：种子生命力方程奠定了使用种子库技术长期保存正常性种子种质资源的理论基础，同时也为采用人工老化法研究正常性种子的寿命提供了科学依据；而顽拗性种子的定义则明确指出了一类有别于正常性种子的种子贮藏行为的存在，常规种子库的低温低湿条件不仅不能延长这类种子的寿命，反而会加速其死亡，并使得顽拗性种子成为最近30多年来

* 基金项目：中国科学院院长基金和国家自然科学基金项目 (30571526)
收稿日期：2007-06-12，2007-11-22 接受发表
作者简介：文彬 (1967-) 男，博士研究生，主要从事种子生物学研究。E-mail: wenb@xtbg.org.cn

世界范围内种子科学研究的热点。在这些研究中，人们尝试使用非常规的技术和方法来实现顽拗性种子的长期保存，而且研究的重点已经从保存方法和技术的研究扩展到种子顽拗性机理的研究。

汉语中，陶嘉龄最先将这一术语介绍到国内，译为"顽拗型种子"(陶嘉龄，1986)，但随后又改成"异端型种子"(陶嘉龄和郑光华，1990)。1991 年傅家瑞发表关于顽拗性种子的综述时首先使用"顽拗性种子"替代"顽拗型种子"(傅家瑞，1991)。从此，"顽拗性种子"一词使用得越来越广泛，而"顽拗型种子"则渐少使用 (彭业芳和傅家瑞，1994a；宋松泉等，1994；伍贤进等，2003；傅家瑞和宋松泉，2004；宋松泉等，2004；唐安军等，2004；杨期和等，2006)。

顽拗性种子与"顽拗型种子"虽然仅一字之差，却包含有深刻的内涵。"顽拗型种子"一词重点说明的是种子所属的类型，提示人们"正常型种子"和"顽拗型种子"这个二元结构的种子贮藏行为的划分；而"顽拗性种子"强调的是这类种子具有的"性质"，对不同植物的种子这种性质可大可小，可强可弱，甚至是可有可无，从而构成种子顽拗性的连续谱。因为随着研究的深入，人们发现顽拗性种子相互之间存在着很大的差异，可以进一步划分出几种不同类型的顽拗性种子，把"型"改为"性"同时可以避免重复使用"型"字 (傅家瑞和宋松泉，2004)。

尽管英语中一直使用 Recalcitrant Seeds 一词，实际上也存在一个从"顽拗型种子"到"顽拗性种子"的变化过程，可能是由于语言的原因，并没有在字面上反映出来，但其含义已发生了变化。最初，Roberts (1973) 提出的就是一个二元结构的种子贮藏行为的划分系统，种子贮藏行为符合生命力方程的为"正常型种子"，不符合生命力方程的为"顽拗型种子"。应该说，当初把 Recalcitrant Seeds 翻译成"顽拗型种子"的表述是非常忠实原文的。其后，Farrant 等 (1988) 将"顽拗型种子"进一步划分为"低度顽拗型种子"、"中度顽拗型种子"和"高度顽拗型种子"。前者可以脱水到相对较低的含水量水平，生命力不发生显著的变化，只是萌发变慢；后者对脱水和低温高度敏感；而"中度顽拗型种子"则介于二者之间，从而在顽拗性种子内部由不同类型的"顽拗型种子"构成了一个连续谱。后来，Bonner (1990) 提出了一种结合生境条件的划分方法，把"正常型种子"细分为"真正常型种子"和"亚正常型种子"，"真正常型种子"能脱水到 10%以下并在冰点以下温度贮藏相当长的时间，"亚正常型种子"也可以忍耐这样的低温和含水量，但只能保存较短的时间；同时把"顽拗型种子"细分为"温带顽拗型种子"和"热带顽拗型种子"。"温带顽拗型种子"不耐脱水，但可以在接近冰点的温度下贮藏若干年，"热带顽拗型种子"则对脱水和低温都敏感。这样又在"正常型种子"内部形成了一个连续谱。再后来，Ellis 等 (1990，1991) 认识到在"正常型种子"和"顽拗型种子"之间有过渡类型的存在，并提出了种子贮藏习性的第三种类型，即中间型种子。中间型种子可以脱水到较低的含水量，从 7%～20% (相当于风干种子含水量的上限)，含水量下限因种而异，并且在这一下限之上种子寿命随含水量降低而提高，但进一步脱水则受害。于是，"顽拗型种子"连续谱和"正常型种子"连续谱被中间型种子联系了起来。在此基础上，Hong and Ellis (1995，1996) 提出把"顽拗型种子"和中间型种子细分为"热带起源的顽拗型种子"和"温带起源的顽拗型种子"，"热带起源的中间型种子"和"温带起源的中间型种子"。可见"中间型种子"内部也有一个连续谱。尽管不同的作者提出了不同的划分方法和类型，但他们都认为这些类型并不是相互割裂的，而是存在一个种子顽拗性的连续谱。而 Berjak and Pammenter (1994，2001) 则更直接而明确地指出种子的顽拗性不是一个或有或无的现象，而是一种数量性状，"顽拗型种子"和"正常型种子"不是两个相互对立的事物，而是分别位于一个连续谱的两个端点。至此，一个完整的种子顽拗性的连续谱被建立起来。种子顽拗性作为一个整体，其数量性状特征逐渐为人们接受 (Berjak and Pammenter，1994；Song 等，2003)。

2　种子顽拗性的核心内容及其复合数量性状特征

顽拗性种子和正常性种子的贮藏寿命随贮藏环境条件 (包括温度、种子含水量和氧分压) 的

改变具有完全不同的反应模式，即种子的贮藏行为，Roberts (1973) 的独到之处就在于提出了一个根据贮藏行为划分种子类型的方法。很显然，判断是否为顽拗性种子和种子顽拗性的强弱就应该以其贮藏行为特征为依据，通过把种子脱水到不同的含水量并在不同的温度下贮藏不同的时间，检测其生命力变化是否符合种子生命力方程。为此，IPGRI设计了一个确定种子贮藏习性和适宜贮藏环境条件的试验方案：首先确定种子的脱水耐性，从新鲜种子开始，按含水量每降低5%取样一次，直到含水量降到15%，然后再按含水量每降低2.5%取样一次，直到含水量降到2.5%左右 (淀粉类种子含水量的最低值为4%左右)，检测脱水对种子生命力的影响；然后，在此基础上，通过多个含水量、多个温度和多个时段密闭贮藏的多因素组合实验确定种子贮藏的适合环境 (Hong and Ellis，1996)。即便如此，由于采种时种子不够成熟或过熟以及种子运输、加工、预处理、脱水、贮藏过程中出现失误或活力测定的方法不当，还是会导致对种子贮藏行为的误判。IPGRI把这些归纳成10条提请人们注意 (Hong and Ellis，1996)。

由此可以看出，一个种子批，只有同时能够耐脱水、耐低温和耐贮藏，才能判定为正常性种子。只要在脱水耐性、低温耐性或贮藏耐性的某一个方面存在不足或缺失，即可以称作表现出某种程度的顽拗性。因而种子顽拗性至少包含脱水耐性、低温耐性、贮藏耐性三个方面的核心内容，而这三个方面又都表现出数量性状的特征。

脱水敏感性是顽拗性种子最重要的特征，也是种子顽拗性中研究得最多的方面。用来度量种子脱水敏感性或脱水耐性的主要有含水量和水活性两方面的指标，前者包括致死含水量、半致死含水量、最低安全含水量、临界含水量等，后者主要有平衡相对湿度和水势两项。很显然，这些指标都属于数量性状。不同种子在脱水敏感性方面存在量的差别，典型的正常性种子和顽拗性种子实际上是处于脱水耐性的两个端点，其显著差异不言而喻。顽拗性种子以脱水敏感为共同特征，King and Roberts (1979) 发现顽拗性种子对含水量降低的反应是非线性的，含水量-种子生命力曲线存在一个拐点，在这个拐点之上，脱水对种子生命力的影响很小，超过了这个限度种子生命力会陡然下降，并将这一含水量定义为临界含水量 (the Critical Moisture Content)，类似于被Tompsett (1984) 称之为最低安全含水量 (the Lowest Safe Moisture Content) 的指标。顽拗性种子的最低安全含水量或临界含水量也因种而异，如橡胶 (*Hevea brasiliensis*) 种子可以耐受44%的水分损失 (从初始含水量36%降低到20%) (Chin等，1981)，与之相比，最轻微的水分丢失 (从初始含水量64.4%降低到61.5%) 都会对 *Avicennia marina* 种子造成伤害 (Farrant等，1985)。不同的顽拗性种子具有不同的最低安全含水量，实际上反映出种子内部水分子与代谢活性物质的结合状态不尽相同 (Finch-Savage，1992)。正常性种子之间脱水耐性也存在差异，因为有些种子是可以耐超干处理的，可以耐受更多的水分从组织中移除。一般认为，中间型种子脱水到10%左右、正常性种子脱水到5%以下，生命力可以不受影响 (Hong等，1996)。种子的化学组成对脱水耐性有很大的影响，通常脂肪类种子比淀粉类种子更耐脱水，对于这类种子上述含水量下限值都可以下调。另外，种子的脱水环境 (温度)、脱水方式 (速率) 和种子的发育状态、复水方式也会影响种子的脱水耐性 (Berjak and Pammenter，1994，2001；Song等，2003)，这就使得同一植物的种子能够耐受的最低含水量出现波动。

与脱水耐性一样，低温耐性也是一种渐变的数量性状。种子的低温耐性与其水分含量、抗冻蛋白含量、代谢状态、过冷却能力等诸多因素有关。由于种子本身所含水分即种子含水量是决定低温条件下寒害、冻害发生与否的重要因素，因此种子的低温耐性与脱水耐性密切相关，对种子低温耐性的评价也就必须结合种子的含水量才能得出正确的结论。一个很好的例子是，原产于亚非两洲热带地区具有中间型贮藏行为的 *Azadirachta indica* 种子，当含水量高于10%的时候对10℃以下的低温敏感，当含水量降到4%～8%的时候，则可以耐受-20℃的低温 (Sacandé等，1998)。Hor等 (1990) 认为存在一个临界含水量 (下限) 和一个最高冻结含水量 (上限)，含水量高于最高冻结含水量的种子遇到零下低温会因胞内结冰遭受伤害，把种子脱水到临界含水量以下

则会导致脱水伤害。正常性种子因为最高冻结含水量较高且临界含水量较低，二者之间存在一个“窗口”，因此只要充分干燥就可以耐受零上低温、零下低温以至超低温的胁迫；顽拗性种子和中间型种子则没有这样一个含水量“窗口”或“窗口”很小，因此一般不能耐受零下低温。而且，顽拗性种子和中间型种子对零上低温的耐性也存在度的差异。如 Sasaki（1980）把龙脑香科植物的种子分为两类，大部分龙脑香科植物的种子必需在 15℃甚至更高的温度条件下才能避免冷害；而少部分龙脑香科植物的种子能忍耐 4℃的低温。Yap（1981）则认为根据低温耐性，龙脑香科植物的种子应分为三类，除 Sasaki 提出的两类外，还有一类种子不能耐受低于 22～28℃的温度。Hor 等（1984）发现可可（*Theobroma cacao*）种子存在一个确定的低温耐受界限，温度下降到 17℃对种子的生命力影响不明显，继续下降到 15℃则导致生命力急剧下降。一般说来，原产于温带的顽拗性种子和中间型种子比原产于热带的顽拗性种子和中间型种子更能耐受低温。温带起源的中间型种子可以在接近冰点的温度中期贮藏，而热带起源的中间型种子在 10℃以上都有可能受到伤害。

很早以前，人们就知道种子的寿命长短有别，并把种子分为短寿命种子（< 3 年）、中寿命种子（3～10 年）和长寿命种子（> 10 年），这主要是根据风干种子在常温和非密闭贮藏条件下的存活期划分的，在这样的环境下，顽拗性种子的寿命为几天到几周，中间型种子的寿命为几个月到 1 年，正常性种子的寿命为几年，少数种子可以存活几十至上百年，如莲子（*Nelumbo nucifera*）。由于种子的寿命受温度、湿度和大气氧分压等环境条件的影响，这就使得种子贮藏耐性的度量变得更为复杂。正常性种子和顽拗性种子不仅在脱水耐性和低温耐性方面存在差别，而且对低温和脱水的反应完全相反。在一定范围内，降低温度和含水量能够延长正常性种子的寿命；对顽拗性种子，温度或含水量的降低不仅不能延长寿命，反而会加速死亡。当把种子寿命作为种子贮藏耐性的度量指标时必须结合具体的贮藏条件来进行，而不同类型的种子又具有不同的最适宜贮藏条件。即便是在各自的适宜贮藏条件下，各种植物种子的贮藏寿命差别明显。按照目前普遍接受的观点，顽拗性种子的适宜贮藏条件是在相对较低而又不至于引起寒害的温度下、潮湿和部分通气的环境，在这样的条件下典型顽拗性种子的寿命为数周到数月，来源于温带地区的顽拗性种子可以耐受零下低温，寿命比较长，如贮藏于 - 3℃、潮湿条件下的橡树（*Quercus* ssp.）种子的寿命可达 3 年多（Suszka，1971～1974）。中间型种子宜于采用平衡相对湿度为 40%～50%的种子密封贮藏，原产于温带的中间型种子可以在 5～ - 20℃的温度下贮藏，原产于热带的中间型种子的贮藏温度不宜低于 10℃，在这样的环境下中间型种子保存生命力的期限为 1 年到数年。IPGRI 推荐的种子库贮藏正常性种子的条件是 5%～7%的含水量、 - 18℃及更低温密封贮藏（Ellis 等，1985）。在这样的贮藏条件下，经历几十上百年种子的生命力都不会发生显著性变化，要想在短时间内确定种子的寿命几乎是不可能的。然而种子生命力方程和人工老化实验为预测正常性种子的寿命提供了可行的办法，根据这种办法推算，在 5%含水量和 - 20℃条件下，正常性种子的贮藏期从几年到 24000 年不等（Hong 等，1996）。所有这些都说明，种子的贮藏耐性也是一种渐变的数量性状。

实际上，种子顽拗性的核心内容还应该包括低氧耐性这一项，因为贮藏空间的氧分压也是直接影响种子贮藏寿命的因素。与温度和含水量比较起来，贮藏空间的氧分压或气体组成很难调控或检测，因为种子的代谢活动，即便是在密闭的空间内气体组成也不是一成不变的。因此，关于气体组成对种子贮藏寿命的影响及种子低氧耐性方面的研究开展的很少，也是因为这一原因，Roberts（1973）的种子生命力方程才没有把这方面的内容考虑进来。但从有限的报道来看，正常性种子和顽拗性种子在低氧耐性上存在差别。降低氧分压可以提高正常性种子的寿命，贮藏在氮气中的种子要比贮藏在空气中的种子寿命长（Roberts，1961）；在一个大气压下，氧浓度从 21%逐步降到零，贮藏种子的劣变随之相应的减少（Roberts and Abdalla，1968）。但降低氧浓度会加速顽拗性种子的死亡，当氧分压从 21%逐步降到零时，贮藏的顽拗性种子的寿命随之相应的

缩短了 (Tompsett, 1983)。因此, 正常性种子适宜于密闭贮藏, 而顽拗性种子的贮藏则需要一个适度通气的环境, 因为敞开存放会导致种子失水, 过于密闭又会造成低氧胁迫。

种子顽拗性不是一个简单性状, 至少是由脱水耐性、低温耐性和贮藏耐性三方面构成的复合性状, 而这三个方面又各自包含有多项内容, 如脱水可能招致的伤害至少包括膨胀压下降对细胞的机械胁迫、中间含水量下的代谢胁迫和结合水移除对大分子结构的破坏等 (Pammenter and Berjak, 1999), 细胞对这些伤害的抗性和耐性就决定了种子脱水耐性的强弱。种子低温耐性和贮藏耐性的情况与脱水耐性类似或更为复杂。可见, 脱水耐性、低温耐性和贮藏耐性中的任何一个都同时具有质和量的差别, 这就使得种子顽拗性的复合数量性状特征变得更加复杂。

构成种子顽拗性核心内容的三个方面, 即种子的脱水耐性、低温耐性和贮藏耐性, 是相互关联的, 有很强的互补性, 但又不能互相替代。首先, 脱水耐性与低温耐性是密切相关的, 因为胞外结冰导致的过度脱水和胞内结冰是零下低温伤害种子的主要原因。一般说来, 种子只要具有一定的脱水耐性, 在降温之前安全的脱去自由水, 就可以有效的避免低温伤害, 表现出低温耐性。而在低温、低含水量条件下, 种子的代谢活动减弱, 老化过程变缓, 种子的贮藏寿命就会相应的延长。种子的代谢活性及种子所含保护性物质的种类和数量可能是其脱水耐性、低温耐性、贮藏耐性的共同的生理学基础。事实也是如此, 绝大多数植物的种子都是同时具有脱水耐性、低温耐性和贮藏耐性, 表现正常性种子贮藏行为。但反例也不少, 如油棕 (*Elaeis guineensis*)、咖啡 (*Coffea arabica*) 种子可以耐脱水, 低温耐性却不高; 而温带壳斗科植物种子则不耐脱水, 但可以耐零下低温; 而 Bonner (1990) 所定义的“亚正常型种子”则是耐脱水、耐低温、不耐贮藏的类型, 如棕榈 (*Trachycarpus fortunai*) 种子可以脱水到含水量 5%左右并在 -20℃短期贮藏, 但两年后大部分丧失活力 (本试验室未发表数据)。这种相互不可替代的事实, 说明种子的脱水耐性、低温耐性和贮藏耐性有其各自的生理学基础和生态学意义, 是对自然界多样性生境长期适应的结果。

3 种子顽拗性的伴随性状及其复合数量性状特征

提出顽拗性种子概念的上世纪 70 年代, 正是种子生态学兴起的时期, 因此这一概念提出后不久, 顽拗性种子的生态、进化和系统位置等问题就引起了科学家的兴趣, 并发现顽拗性种子在种子尺度、含水量、休眠、地理分布、起源等方面存在很多共性, 这些共性自然就成为种子顽拗性的伴随性状。之所以把它们称作种子顽拗性的伴随性状, 是因为这些性状在顽拗性种子中频繁出现, 与种子顽拗性密切相关但又并非必然相连, 这些伴随性状在种子顽拗性之外都有其各自更为直接的生态学意义。另一方面, 判定种子的贮藏行为类型不仅是一个理论的问题, 同时又是一种很现实的需要。因为种子生命力方程 (Roberts, 1972) 和正常性种子 (Roberts, 1973) 概念的提出, 从理论上说明了正常性种子在低温干燥条件下可以长期保存生命力。到上世纪 80 年代全世界已经建起了 200 多座大中型种子库 (Paul, 1989), 使得种子库成为正常性种子种质资源长期保存的主要方法和植物迁地保护的重要手段。然而, 种子在进入种子库之前, 先要确定是正常性的。面对繁重而又紧迫的种子保存工作, 种子库急需一种简便快捷的方法来判断种子的贮藏行为类型, 于是顽拗性种子的这些伴随形状很快就用来预测种子的贮藏习性 (Daws 等, 2006a)。然而, 这些伴随性状也都表现出数量性状的特征。

Chin 等 (1984) 很早就注意到, 与正常性种子相比, 顽拗性种子一般较大、较重, 脱落时的初始含水量较高。顽拗性种子在脱落时含水量的分布范围是 36%～90%, 中间型种子为 23%～55%, 正常性种子为 20%～50% (Hong and Ellis, 1996)。顽拗性种子因为发育过程中缺少成熟脱水阶段, 且在整个发育过程中对脱水高度敏感 (Farrant 等, 1986a), 因此成熟时保持较高的含水量就是必然的结果。而顽拗性种子较大、较重与其成熟时的初始含水量较高是密切相关的。因为大粒种子具有较小的表面积 体积比, 在干旱胁迫下失水较慢, 有利于保持种子的水分与活力; 而种子含水量高, 自然就会更重。通过对 30 种

农林植物种子的研究发现，顽拗性种子千粒重通常在 500 克以上，脱落时的初始含水量高达 30% 乃至 70%（Chin 等，1984）。种子尺度、千粒重和初始含水量又是很直观易得的指标，故而常用作预测种子贮藏习性的指标。然而也有例外，如磕藤子（*Entada* sp.）和苏铁（*Cycas* ssp.）的种子很大、很重，超过了许多顽拗性种子，却表现正常性种子的贮藏行为。而且，自然界的种子无论是种子尺度、千粒重还是初始含水量，都是数量性状。Hong and Ellis（1996）研究了槭树科、南洋杉科、龙脑香科、壳斗科、桃金娘科共 27 属 92 种植物种子的千粒重，发现确实存在顽拗性种子大于中间型种子，中间型种子又大于正常性种子的趋势，但三者之间是相互过渡、穿插的。他们对种子初始含水量方面的研究也得出相同的结论。

顽拗性种子的另一个显著特点是萌发迅速，一般表现为无休眠（Farnsworth，2000）。如龙脑香科、无患子科的一些顽拗性种子采后两三天即可依靠自身的水分萌发，海雌榄（*Avicennia marina*）等红树植物的种子在从母株脱落之前就已经萌发（胎萌）。Berjak 等（1984）把顽拗性种子看作是萌发中的幼苗，而不是静止的种子，认为其顽拗性源于早在种子从母株上脱落之前萌发过程已经启动，这类种子到达生理成熟后即转向萌发，而不是象正常性种子一样转向成熟脱水。顽拗性种子萌发迅速是因为种子成熟时 ABA 含量偏低或胚对 ABA 不敏感，或二者兼而有之。同时，这类种子通常种皮薄而疏软，种子成熟时仍保存很旺盛的代谢活动，这些都是与其快速萌发相适应的。但原产于温带的壳斗科、槭树科、七叶树科的顽拗性种子 ABA 含量也高，具有休眠特性，并且需要经过低温处理解除休眠，如 *Aesculus hippocastanum*（Tompsett and Pritchard，1998；Obroucheva and Antipova，2004）。最近，我们发现西双版纳热带雨林中的藤黄属、胡桐属、玉蕊属植物的种子也同时具有顽拗性和休眠特性（本实验室未发表资料）。Tweddle 等（2003）研究了 886 种植物种子的顽拗性与休眠的关系，发现在无休眠的种子中脱水敏感性种子多，而在休眠种子中脱水敏感性种子很少；在 156 种顽拗性种子中有 68.6% 为无休眠的种子，19 种中间型种子中 73.7% 为无休眠的种子，而 711 种正常性种子中 68.5% 为休眠种子。Gleiser 等（2004）研究了 *Acer* 属植物种子的贮藏习性进化和种子休眠特性的进化，发现二者是各自独立进行的。可见，顽拗性与无休眠存在密切但又并非必然的联系，而且休眠本身就是一种数量性状，从胎萌到快速萌发，从无休眠到休眠再到深度休眠也是渐变的。为此，Baskin and Baskin（2004）提出了一个等级系统把种子的休眠分为不同的类型，每个类型又分出几个层次和等级。

果实和种子的形态结构特征也为预测种子贮藏习性提供了线索（Dickie and Stuppy，2003），如瘦果一般为正常性种子，硬实种子也可判定为正常性的。但生产核果、荚果、浆果、蒴果、坚果的植物，其种子可能是顽拗性种子、中间型种子和正常性种子中的任何一种；具有假种皮的种子在 3 种贮藏类型的种子中都有（Hong and Ellis，1996）。果实和种子的形态结构特征是具有分类学意义的，植物的系统分类位置也为预测种子贮藏习性提供了线索，我们整理了英国皇家植物园——邱园（http://www.rbgkew.org.uk/data/sid，Seed Information Database（release 5.0，Jul. 2003）在网上公布的种子贮藏特性，在贮藏习性比较确定的 9953 种植物中，生产顽拗性种子的有 527 种，分属于 69 科 201 属，占总数的 5.29%，生产中间型种子的有 145 种，分属于 39 科 78 属，占总数的 1.46%，余下 9 281 种皆属正常性。可见，生产顽拗性/中间型种子的植物分类归属十分广泛，但种类不多，在分类系统上也并不是紧密相连的。大部分科属尚没有记录到生产顽拗性/中间型种子的物种，有些科属记录到的物种全部生产顽拗性/中间型种子，其余的科属则是生产正常性种子的物种和生产顽拗性/中间型种子的物种都有，生产顽拗性/中间型种子物种占全部物种的比例有高有低，呈现渐变的、逐渐过渡的现象。

种子的贮藏习性与其原产地生境有一定的关系，Roberts（1975）最早注意到了这种联系，提出生产顽拗性种子的主要有两类植物，一是水生植物，一是热带地区生产大粒种子的多年生植物。在水生环境下，种子没有了遭遇脱水胁迫的威胁，因此脱水耐性不足或缺失；而热带地区的多年生植物使用了这样一种生存策略，即在每年相对湿润的季节落种，然后种子不经休眠就尽快

萌发，这类植物更多的依靠地上成年植株的多年生长习性而不是依靠种子在土壤中的长期“静止”来维持物种的持久存在（Roberts and King，1980）。Hanelt（1977）认为从生态上看生产短命种子（顽拗性）的是热带雨林、温带河岸带状林和水生环境中生长的乔木和灌木。Tompsett（1994）注意到南洋杉科和龙脑香科中生产较高脱水耐性种子的植物生长在热带干性林中。Dickie等（1992）对棕榈科的研究得出了类似的结论。在存在明显的雨季和干季的热带地区，顽拗性种子倾向于在雨季成熟（Pritchard等，2004）。Tweddle等（2003）研究了886种生产顽拗性（不包括中间型）种子的植物分布，发现从热带到温带，从湿热地区到干热地区，存在顽拗性种子种类逐渐减少的趋势。但不同的生境间是逐渐过渡的，生产正常性种子和顽拗性种子的植物在同一生境中是共存的，如在巴拿马半落叶热带森林中报道有36种植物生产顽拗性种子，189种生产正常性种子（Daws等，2005），即便是在象西双版纳热带沟谷雨林这样的湿热生境中，同样是顽拗性种子、中间型种子和正常性种子并存。至于生产顽拗性种子的植物多为高大乔木，也只是存在这样的趋势，因为生产顽拗性 中间型种子的植物也有灌木和草本，如咖啡（*Coffea* ssp.）和野生稻（*Zizania palustris*），同时高大乔木也并非都生产顽拗性种子。

科学家们一直试图从生化方面寻找导致种子顽拗性的原因，并希望由此找到鉴定顽拗性种子的捷径。种子含有的保护性物质就是这样一类化学成分，研究发现顽拗性种子与正常性种子在蛋白质、可溶性糖和脂类等的组成和含量方面均存在差别，并找到了分别与脱水耐性、低温耐性和贮藏耐性相关的蛋白或基因，其中Lea蛋白是这些保护性物质中研究得最多的。Lea蛋白即胚胎发育后期丰富蛋白，是一类在种子成熟期大量合成与积累的特征性蛋白，含量可达到细胞蛋白总量的4%以上，主要功能是提高组织的抗逆性。根据棉花胚蛋白的氨基酸序列同源性，可以把Lea蛋白分为6组，即Lea D19、Lea D11、Lea D7、Lea D113、Lea D29和Lea D95，不同类型的Lea蛋白在结构上存在差异，在胁迫条件下表现的功能也有差别。其中，Lea11蛋白又称脱水素，是一组免疫特征明显、高度亲水、与脱水耐性密切联系的蛋白。最初是在用ABA和脱水胁迫水稻的过程中诱导了一个新基因的表达从而发现了脱水素（Mundy and Chua，1988），后来证实脱水素广泛存在于高等植物的根、叶、胚、种子和幼苗中（Close，1997），特别是在许多植物胚胎发育后期的种子中检测到了脱水素，但在原产于热带湿热生境的顽拗性种子如海雌榄（*Avicennia marina*）中常常缺乏脱水素蛋白（Farrent等，1992）。因此，顽拗性种子脱水敏感的部分原因被认为是在发育过程中不能积累足够的脱水素也不能诱导合成脱水素（Farrent等，1992；Han等，1997）。不过，ABA和逆境胁迫可以诱导Lea蛋白在一些植物的种子中合成和积累（Blackman等，1995；Kermode，1997），后来又发现在原产于温带的顽拗性种子中也能够检测到脱水素的存在（Finch-Savage等，1994；Farrent等，1996）。在以两种热带顽拗性种子为材料的对比研究中（Han等，1997），*Castanospermum australe*被检测到有类脱水素的积累，而在*Trichilia dregeana*中却检测不到类脱水素。分子生物学方面的研究表明，脱水素是由多基因控制的，这些基因成簇分布在不同的染色体上，具有数量性状特征（Campbell and Close，1997）。可见，不同脱水耐性的种子所含的Lea蛋白在种类和数量上都不相同，而且处于一种动态状态，不是可以用简单的或有或无来说明的。Lea蛋白本身并不能作为种子脱水耐性或贮藏行为类型的标记。其他保护性物质如可溶性糖（Ooms等，1994a；Steaman等，1996）的情况与Lea蛋白一样，也不是简单的或有或无的问题。

4 种子顽拗性数量性状的三个层面

现在，当人们谈论种子顽拗性是一种数量性状的时候，实际上包含着3个方面的内容，即种子顽拗性数量性状的3个层面：

一个是种间层面，即是不同种植物的种子具有不同程度的顽拗性，顽拗性与正常性不是绝然分开的，而是逐渐过渡的，构成一个种子顽拗性的连续谱，顽拗性种子和正常性种子位于这个连续谱的两端（Berjak and Pammente，1994，2001）。本文前部分基本上都是以种间层面的例子来论述种子顽拗性的复合数量性状特征，故而这方面的

内容无需赘述。

另一个是种内层面，是指同一种植物的种子因为种种原因，在脱水耐性、低温耐性、贮藏耐性和种子尺度、休眠等方面表现出差异。在顽拗性种子研究的早期，主要是在种间层面上讨论种子顽拗性的数量性状特征，随着资料的积累和研究的深入，人们发现同一种植物的种子从不同实验室得出的结论迥然不同，甚至同一种植物不同批次的种子在同一实验室也会得到不同的结果，例如，不同的研究者根据各自迥然不同的实验结果分别把 *Azadirachta indica* 划为顽拗性种子、中间型种子和正常性种子（Poulsen，1996；Sacandé，2000）。类似地，关于茶（*Camellia sinensis*）（Amma and Watanabe，1985；Hu 等，1993；Berjak 等，1993）、小粒咖啡（*Coffea arabica*）（Ellis 等，1990，1991）和野生稻（*Zizania palustris*）（Probert 等，1989；Kovach and Bradford，1992；Vertucci 等，1995；Horne and Kahn，2000）种子的贮藏特性也有不同的报道。一方面是由于不同的实验室采用不同的实验方法和技术等人为因素造成的，另一方面，是由于这些植物的种子在种内层面上表现出顽拗性的数量性状特征，即是同一种植物的种子因为品种不同、原产地不同或不同年份的气候波动，造成了种子顽拗性的差异。

种子顽拗性是多基因控制的数量性状，植物的遗传多样性是种内种子顽拗性差异的重要来源。农作物因为品种多、播种广，这一点表现得很明显。Haferkamp 等（1953）报道了经 32 年贮藏后小麦（*Triticum aestivum*）、玉米（*Zea mays*）品种间的贮藏耐性的差异；James 等（1967）报道菜豆（*Phaseolus vulgaris*）、黄瓜（*Cucumis sativus*）、豌豆（*Pisum sativum*）、西红柿（*Lycopersicum esculentum*）、玉米（*Zea mays*）与西瓜（*Citrullus lanatus*）种子不同品种间的贮藏耐性也表现出显著的差异。用 3 个品种的鹰嘴豆、3 个品种的豇豆和 4 个品种的大豆分别做为期 2 年的种子贮藏实验，结果表明这三种植物的种子都表现出正常性种子的贮藏行为，但同一物种不同品种的种子寿命差别明显（Ellis 等，1982）。对小粒咖啡（*Coffea arabica*）30 个批次种子的研究发现，品种间在脱水耐性和超低温耐性方面均存在很大的变异（Vasquez 等，2005）。最有力的证据是，用耐脱水的咖啡（*Coffea pseudozanguebariae*）与脱水敏感的中粒咖啡（*C. liberica*）做种间杂交及回交实验，其后代的脱水耐性各不相同但都介入两个亲代之间（Dussert 等，2004）。还有来自基因突变的证据，多种农作物具有胎萌突变体类型，其野生型植株生产正常性的种子，但某些位点的基因发生突变后就会成为胎萌突变体，生产的种子随之成为脱水敏感类型，如玉米至少存在 8 个这样的突变体（McCarty and Carson，1991）。

原产地不同，种子的贮藏耐性不一样。潘学彪等（1988）报道籼稻（*Oryza sativa* subsp. *keng*）与粳稻（*O. sativa* subsp. *hsien*）的耐贮性跟其原产地有关。Wien and Kueneman（1981）和 Russom（1983）报道产自印度尼西亚的大豆（*Glycine max*）比美国大豆耐贮藏。欧亚槭（*Acer pseudoplatanus*）原产南欧和中欧，但在整个欧洲都有广泛的栽培，对从南欧到西欧 6 个产地的欧亚槭种子的研究发现，种子顽拗性的种内差别明显，来自苏格兰的种子脱水敏感性很高，属顽拗性种子，而原产法国和意大利的种子更符合中间型种子的特点（Daws 等，2006b）。类似的情况在欧洲七叶树（*Aesculus hippocastanum*）种子中也存在，从 5 个产地收获的种子脱水耐性各不相同，来自苏格兰的种子脱水敏感性明显的高于来自希腊的种子（Daws 等，2004）。

同一地区因为气候的年际变化，会导致种子顽拗性的差异。通过对生长在英国肯特郡的欧洲栎（*Quercus robur*）连续五年的研究发现，气候的年际波动导致了种子特性的年际差异，在偏冷的年份种子发育期较短，生产的种子干重较小，脱落时的含水量较高而脱水敏感性较高（Finch-Savage 等，1994）。Delouche and Baskin（1973）指出，种子的贮藏耐性除受遗传因素影响外，主要由种子贮藏前的状况或者说是从田间成熟到贮藏时的劣变水平决定的。母株的生长环境，如温度、光周期、降雨量、湿度等对种子的质量有极大的影响。

同一地区同一年份收获的种子，因为采后处理方式不同等原因，表现出不同的顽拗性。顽拗性种子的脱水敏感性随着采后时间的推移而增强（Farrant 等，1986b），因此需要尽早处理，不要拖延。然而，完熟前的正常性种子延迟干燥却有

利于提高种子的脱水耐性和贮藏耐性 (Hay and Probert, 1995; Hay 等, 1997)。脱水环境即脱水速率和温度对脱水耐性的表达也有重要影响, 顽拗性种子如果在适宜的温度下快速脱水 (flash drying), 可以降低种子的致死含水量和半致死含水量 (Grout 等, 1983; Farrent 等, 1985; Berjak and Pammenter, 1994; Song 等, 2003)。许多实验都证实, 快速脱水能够将顽拗性种子或其胚 (胚轴) 脱水到较低的含水量而保持较高的活力 (Pammenter 等, 1998; Wesley-Smith 等, 2001), 因为在快速脱水的过程中种子材料在中间含水量下停留的时间缩短了, 因而累计遭受的代谢胁迫也减少了 (Waters 等, 2001; Berjak and Pammenter, 2004)。但脱水速度也不是越快越好, Liang and Sun (2000, 2002) 就观察到顽拗性种子有一个最适宜脱水速度, 因为脱水太快增加了种子的脱水敏感性。需要说明的是, 快速脱水虽然可以使顽拗性种子或是其胚 (胚轴) 的含水量降到比较低的水平并保存比较高的活力, 但是在通常条件下保存寿命都比较短, 有时还会表现出低温敏感性, 因此仍然不同于正常性种子。一般说来, 达到完全成熟的正常性种子采收后要迅速完全干燥, 而顽拗性种子则要避免高温和脱水, 否则会降低贮藏耐性或寿命。

实际上, 在同一批次的种子内部也存在个体差异, 种子个体的脱水耐性、低温耐性、贮藏耐性等也是有差别的, 因为同一批种子无论是受到脱水胁迫还是低温胁迫, 也无论是在适宜条件下贮藏还是在人工实验中老化, 都是种子个体相继死亡而不是瞬间集体死亡, 表现为发芽率逐渐降低, 而且种子生命力方程就是以种子的寿命服从正态分布为前提建立起来的 (Roberts, 1973)。

种子顽拗性数量性状特征的第三个层面是个体发育层面, 同一粒种子在其发育的不同阶段具有不同的顽拗性。例如, 正常性的玉米 (*Zea mays*) 胚在发育过程中逐渐获得脱水耐性, 发育早期的玉米胚不耐脱水或脱水耐性很低 (伍贤进等, 2002)。顽拗性的黄皮 (*Clausena lansium*) 种子在整个发育过程中都对脱水敏感, 但在成熟前存在一个脱水耐性相对较高的阶段 (金剑平等, 1994; 何军贤等, 1995)。同样是顽拗性种子的荔枝 (*Litch chinensis*) 和龙眼 (*Dimorcarpus longan*) 种子也表现出与黄皮类似的发育模式 (彭业芳和傅家瑞, 1994b)。种子发育过程中保护性物质的积累和抗氧化酶活性的变化是种子获得脱水耐性的物质基础 (Baily 等, 2001)。最近我们发现, 玉米 (*Zea mays*) 胚的超低温耐性也有与其脱水耐性相同的发育模式, 即在发育的早期不耐超低温处理, 到一定阶段后获得超低温耐性, 然后超低温耐性逐渐提高, 达到最大并保持最大水平, 但超低温耐性的发育要明显迟于脱水耐性的发育 (Wen and Song, 2007a)。而顽拗性的蒲葵 (*Livistona chinensis*) 胚的超低温耐性的发育模式跟黄皮脱水耐性的发育模式类似, 完全成熟前的某一个阶段超低温耐性相对较高 (Wen and Song, 2007b)。正常性的毛地黄 (*Digitalis purpurea*) 种子的脱水耐性和贮藏耐性随着种子成熟度的增加而提高, 种子的最大贮藏寿命是在种子完全成熟时获得的 (Hay and Probert, 1995; Hay 等, 1997)。同样的规律也存在于土豆 (*Solanum tuberosum*) 种子的发育过程中 (Demir 等, 2001)。

脱水耐性又是可以人工操纵的, PEG 渗透胁迫、慢速脱水 (slow drying)、ABA 预培养和梯度蔗糖培养等都可以用来诱导和提高一些顽拗性种子的脱水耐性 (Ooms 等, 1994b; 黄雪梅等, 2000)。例如, 顽拗性黄皮 (*Clausena lansium*) 胚轴可以通过 ABA 预培养和梯度蔗糖培养提高脱水耐性, 以梯度蔗糖培养效果更好 (陆旺金和傅家瑞, 1997)。经梯度蔗糖培养提高脱水耐性的胚轴用于超低温保存, 效果明显优于对照 (黄雪梅等, 2003)。未发育完全的正常性种子跟顽拗性种子类似, 对低温和脱水敏感, 但慢速脱水能够诱导脱水素和可溶性糖等保护性物质的积累, 提高脱水耐性, 同时种子的低温耐性和贮藏耐性也随之提高 (Obendorf 等, 1998; Black 等, 1999)。

越来越多的证据表明, 种子顽拗性是由多基因决定的, 同时又在很大程度上是受种子脱落前 (先天) 和脱落后 (后天) 的环境调节, 而且是可以人工修饰的。这些遗传的、环境的和人工的多种因素, 造就了种子顽拗性的数量性状特征。

5 结论

种子性状中, 那些与种子贮藏行为特征存在必然联系、直接决定种子顽拗性的因素是种子顽

拗性的核心内容，而那些间接的、联系紧密但并非必然的因素是种子顽拗性的伴随性状。种子顽拗性的核心内容的内涵是：它是一种跟正常性种子贮藏行为不同的种子贮藏行为。正常性种子具有耐脱水、耐低温、耐贮藏的特点，在一定的范围内降低贮藏温度或降低种子的含水量，种子的贮藏寿命会相应的延长，并且是可以用种子生命力方程预测的。顽拗性种子则至少在脱水耐性、低温耐性和贮藏耐性的某一个方面存在不足或缺失，因而用常规种子库贮藏正常性种子的那种低温、低含水量和密闭贮藏的方法去保存顽拗性种子就达不到延长贮藏期的效果，相反往往会加快种子的死亡。脱水耐性、低温耐性和贮藏耐性三者互相联系，有很强的互补性，但又不能够完全互相替代，所以说，种子顽拗性是由不同程度的脱水耐性、低温耐性和贮藏耐性构成的复合体，构成种子顽拗性的脱水耐性、低温耐性、贮藏耐性都具有渐变、过渡、数量性状的特点。因此，种子顽拗性是一种复合数量性状。

另外，种子顽拗性的伴随性状，如种子尺度、千粒重、初始含水量、休眠特性、系统分类、地理分布和保护性物质含量等也都表现为渐变的、过渡的、数量型的特征。种子顽拗性的复合数量性状特征不仅表现在不同植物种之间，也表现在种内和个体发育水平，即种子顽拗性的复合数量性状特征存在种间、种内和个体发育三个层面。

种子顽拗性的复合数量性状特征给我们如下几点启示：(1) 种子顽拗性不是一个简单性状，对种子顽拗性需要从质和量两个方面进行描述；(2) 导致种子顽拗性的因素是多方面的，不同种子之间顽拗性的差异可能包含着这些因素在质和量两个方面的不同；(3) 如同种子的休眠性状需要用一个等级系统来评价一样，种子的顽拗性也需要用一个等级系统来将其区分为不同的类型，不同的层次和等级；(4) 种子顽拗性的差别实质上是种子内在生理过程和外部生态适应性的差别，是植物长期适应多样性生境的结果，是生物多样性的一个方面；(5) 种子顽拗性的差异决定了顽拗性种子的长期保存必然存在有不同的难度和解决方法。

笔者提出种子顽拗性复合数量性状的观点，把种子的低温耐性和贮藏耐性提到与脱水耐性同等的高度，目的在于引起人们对种子低温耐性和贮藏耐性的重视，并加强这些方面的研究。在目前种子的低温耐性和贮藏耐性的研究明显落后于脱水耐性研究的情势下，加强这方面的工作就显得非常必要。

致谢　中国科学院植物研究所的程红焱博士对本文的修改提出了宝贵的意见和建议。

〔参　考　文　献〕

傅家瑞，宋松泉，2004. 顽拗性种子生物学 [M]. 香港：中国科学文化出版社

Amma S, Watanabe A, 1985. Long-term storage of germplasm of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) [J]. *Jpn Agric Res Q*, **19**: 196—201

Baily C, Audigier C, Ladonne F *et al.*, 2001. Changes in oligosaccharide content and antioxidant enzyme activities in developing bean seeds as related to acquisition of drying olerance and seed quality [J]. *J Exper Bot*, **52**: 701—708

Baskin JM, Baskin CC, 2004. A classification system for seed dormancy [J]. *Seed Sci Res*, **14**: 1—16

Berjak P, Dini M, Pammenter NW, 1984. Possible mechanisma underlying the differing dehydration responses in recalcitrant and orthodox seeds: desiccation-associated subcellular changes in propagules of *Avicœnnia marina* [J]. *Seed Sci Technol*, **12**: 365—384

Berjak P, Vertucci CW, Pammenter NW, 1993. Effects of developmental status and dehydration rate on characteristics of water and densiccation-sensitivity in recalcitrant seeds of *Camellia* [J]. *Seed Sci Res*, **3**: 155—166

Berjak P, Pammenter NW, 1994. Recalcitrance is not an all-or-nothing situation [J]. *Seed Sci Res*, **4**: 263—264

Berjak P, Pammenter NW, 2001. Seed recalcitrance——current perspectives [J]. *South Afr J Bot*, **67**: 79—89

Berjak P, Pammenter NWm, 2004. Biotechnological aspects of non-orthodox seeds: an African perspective [J]. *South Afr J Bot*, **70**: 102—108

Black M, Corbineau F, Gee H *et al.*, 1999. Water content, raffinose and dehydratins in the induction of desiccation tolerance in immature wheat embryos [J]. *Plant Physiol*, **120**: 463—471

Blackman SA, Obendorf RL, Leopold AC, 1995. Desiccation tolerance in developing soybean seeds: the role of stress proteins [J]. *Physiologia Plantrum*, **93**: 630—638

Bonner FT, 1990. Storage of seeds: Potential and limitation for germplasm conservation [J]. *Forest Ecolog Manag*, **35**: 35—43

Campbell SA, Close TJ, 1997. Dehydrins: genes, proteins, and associations with phenotypic traits [J]. *New Phytologia*, **137**: 61—74

Chin HF, Aziz M, Ang BB *et al.*, 1981. The effect of moisture content and temperature on the ultra structure and viability of seeds of *Hevea brasiliensis* [J]. *Seed Sci Technol*, **9**: 411—422

Chin HF, Hor YL, Mohd Lassim MB, 1984. Identification of recalcitrant seeds [J]. *Seed Sci Technol*, **12**: 429—436

Close TJ, 1997. Dehydrins: A commonalty in the response of plants to dehydration and low temperature [J]. *Physiol Plantar*, **100**: 291—296

Daws MI, Lydall E, CHmielarz P *et al.*, 2004. Developmental heat sum influence recalcitrant seed traits in *Aesculuc hippocastanum* across Europe [J]. *New Phytologist*, **162**: 157—166

Daws MI, Garwood NC, Pritchard HW, 2005. Traits of recalcitrant seeds in a semi-deciduous tropical forest in Panama: some ecological implications [J]. *Funct Ecol*, **19**: 874—885

Daws MI, Garwood NC, Pritchard HW, 2006a. Prediction of desiccation sensitivity in seeds of woody species: a probabilistic model based on two seed traits and 104 species [J]. *Ann Bot*, **97**: 667—674

Daws MI, Cleland H, Chmielarz P *et al.*, 2006b. Variable desiccation tolerance in *Acer pseudoplantanus* seeds in relation to developmental conditions: a case of phenotypic recalcitrance [J]. *Funct Plant Biol*, **33**: 59—66

Delouche JC, Baskin CC, 1973. Accelerated aging techniques for predicting the relative storability of seed lots [J]. *Seed Sci Technol*, **1**: 427—452

Demir I, Ozcoban M, Samit Y, 2001. Changes in seed lot contant (K_i) and storage longevity (σ, p_{50}) in tomato seeds during development in relation to extraction methods [J]. *Plant Varit Seeds*, **14**: 163—169

Dickie JB, Balick MJ, Linington IM, 1992. Experimental investigations into the feasibility of ex situ preservation of palm seeds: an alternative strategy for biological conservation of this ecomically important family [J]. *Biodivers Conserv*, **1**: 112—119

Dickie JB, Stuppy WH, 2003. Seed and fruit structure: significance in seed conservation operation [A]. In: Smith RD, Dickie JB, Linington SL *et al.* eds. Seed Conservation: Turning Science into Practice [C]. Kew: Royal Botanic Gardens, 253—279

Dussert S, Engelmann F, Louarn J *et al.*, 2004. Inheritance of seed desiccation sensitivity in a coffee interspecific cross: evidence for polygenic determinism [J]. *J Exper Bot*, **55**: 1541—1547

Ellis RH, Hong TD, Roberts EH, 1985. Handbook of seed technology for genebanks, volume I. Principles and methodology [M]. Rome: International Board for Plant Genetic Resources

Ellis RH, Hong TD, Roberts EH, 1990. An intermediate category of seed storage behaviour ?I. Coffee [J]. *J Exper Bot*, **41**: 1167—1174

Ellis RH, Hong TD, Roberts EH, 1991. An intermediate category of seed storage behaviour ?II. Effects of provenance, immaturity and imbibition on desiccation-tolerance in Coffee [J]. *J Exper Bot*, **42**: 653—657

Ellis RH, Osei-Bonsu K, Roberts EH, 1982. The influence of genotype, temperature and moisture on seed longevity in chickpea, cowpea and soya bean [J]. *Ann Bot*, **50**: 69—82

Farnsworth EA, 2000. The ecology and physiology of viviparous and recalcitrant seeds [J]. *Annu Rev Ecol Syst*, **31**: 107—138

Farrant JM, Berjak P, Pammenter NW, 1985. The effect of drying rate on viability retention of recalcitrant propagules of *Avicennia marina* [J]. *South Afr J Bot*, **51**: 432—438

Farrant JM, Pammenter NW, Berjak P, 1986a. Germination-associated events and the desiccation sensitivity of recalcitrant seed——a study on three unrelated species [J]. *Planta*, **178**: 198—198

Farrant JM, Pammenter NW, Berjak P, 1986b. The increasing desiccation sensitivity of recalcitrant *Avicennia marina* seeds with storage time [J]. *Physiol Plantr*, **67**: 291—298

Farrant JM, Pammenter NW, Berjak P, 1988. Recalcitrance-a current assement [J]. *Seed Sci Technol*, **16**: 155—166

Farrent JM, Berjak P, Pammenter NW, 1992. Proteins in development and germination of a desiccation sensitive (recalcitrant) seed species [J]. *Plant Grow Regul*, **11**: 257—265

Farrent JM, Pammenter NW, Berjak P *et al.*, 1996. Presence of dehydrin-like proteins and levels of absicisic acid in recalcitrant (desiccation sensitive) seeds may be related to habitat [J]. *Seed Sci Res*, **6**: 175—182

Finch-Savage WE, Blake PS, 1994. Indeterminate development in desiccation-sensitive seeds of *Quercus robur* L. [J]. *Seed Sci Res*, **4**: 127—133

Finch-Savage WE, 1992. Embryo water status and survival in the recalcitrant species *Quercus robur* L.: evidence for a critical moisture content [J]. *J Exper Bot*, **43**: 663—669

Finch-Savage WE, Pramanik SK, Bewley JD, 1994. The expression of dehydrin of proteins in desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds of temperate trees [J]. *Planta*, **193**: 478—485

Fu JR (傅家瑞), 1991. Recalcitrant seed [J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), **27**: 402—406

Gleiser G, Picher MC, Veintimilla P *et al.*, 2004. Seed dormancy in relation to seed storage behaviour in *Acer* [J]. *Bot J Linn Soc*, **145**: 203—208

Grout BWW, Shelton K, Pritchard HW, 1983. Orthodox behaviour of oil palm seed and cryopreservation of the excised embryo for genetic conservation [J]. *Ann Bot*, **52**: 381—384

Haferkmap ME, Smith L, Nilan RA, 1953. Studies on aged seeds. I. Relation of age of seed to germination and longevity [J]. *Agron J*, **45**: 434—437

Han B, Berjak P, Pammenter NW *et al.*, 1997. The recalcitrant plant species, *Castanospermum austral* and *Trichilia dregeana*, differ in their ability to produce dehydrin-related polypetides during seed maturation and in response to ABA or water-deficit-related stresses [J]. *J Exper Bot*, **48**: 1717—1726

Hanelt P, 1977. Okologische und systematische aspekte der lebensadauer von samen [J]. *Biologische Rundschau*, **15**: 81—91

Hay FR, Probert RJ, 1995. Seed maturity and the effects of different drying condition on desiccation tolerance and seed longevity in foxglove (*Digitalis purpurea* L.) [J]. *Ann Bot*, **76**: 639—647

Hay FR, Probert RJ, Coomber SA, 1997. Development of desiccation tolerance and longevity in seeds from detached capsules of foxglove (*Digitalis purpurea* L.) [J]. *Ann Bot*, **79**: 419—427

He JX（何军贤），Jin JP（金剑平），Fu JR（傅家瑞）*et al.*，1995．Study on the developmental pattern and desiccation sensitivity of recalcitrant wampee seeds［J］．*Suppl J Sun Yatsen Univ*（中山大学学报论丛），**1995**（No.1）：40—45

Hong TD，Ellis RH，1995．Interspecific varation in seed storage behavior within two genera-coffea and Citrus［J］．*Seed Sci Technol*，**23**：165—182

Hong TD，Ellis RH，1996．A Protocol to Determine Seed Storage Behavior．IPGRI Technical Bulletin No．1［M］．Rome：International Plant Genetic Resources Institute

Hong TD，Linington S，Ellis RH，1996．Seed Storage Behaviour：a Compendium．Handbooks for Genebanks：No．4［M］．Rome：International Plant Genetic Resources Institues

Hor YL，Chin HF，Karim MZ，1984．The effect of seed moisture and storage temperature on the storability of cocoa（*Theobroma cacao*）seeds［J］．*Seed Sci Technol*，**12**：415—420

Hor YL，Stanwood PC，Chin HF，1990．Effects of dehydration on freezing characteristics and survival in liquid nitrogen of three recalcitrant seeds［J］．*Pertanika*，**13**：309—314

Horne FR，Kahn A，2000．Water loss and viability in *Zizania*（Poaceae）seeds during short-term desiccation［J］．*Amer J Bot*，**87**：1707—1711

Hu J，Guo CG，Shi SX，1993．Partial drying and post-thaw preconditioning improve the survival and germination of cryopreserved seeds of tea（*Camellia sinensis*）［J］．*Plant Genet Resour Newslett*，**93**：1—4

Huang XM（黄雪梅），Fu JR（傅家瑞），Song SQ（宋松泉），2000．The cause and artificial induction of desiccation tolerance in seeds［J］．*Plant Physiol Commun*（植物生理学通讯），**36**（5）：464—469

Huang XM（黄雪梅），Fu JR（傅家瑞），Song SQ（宋松泉），2003．Cryopreservation of wapee（*Clausena lansium* Skeels）axes after induction of desiccation tolerance by grandient sucrose［J］．*Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*（中山大学学报），**42**（Suppl. 2）：231—235

James E，Bass LN，Clark DC，1967．Varietal differences in longevity of vegetable seeds and their response to various storage conditions［J］．*Amer Soc Horticul Sci*，**91**：521—528

Jin JP（金剑平），Fu JR（傅家瑞），Jiang XC（姜孝成），1994．Studies on Desiccation tolerance of wampee seeds in different development stages［J］．*J Trop Subtrop Bot*（热带亚热带植物学报），**2**（2）：58—64

Kermode AR，1997．Approaches to elueidate the basis of desiccation tolerance in seeds［J］．*Seed Sci Res*，**7**：75—95

King MW，Roberts EH，1979．The Storage of Recalcitrant Seeds：Achievements and Possible Approaches［M］．Rome：International Board for Plant Genetic Resources

Kovach DA，Bradford KJ，1992．Imbibiational damage and desiccation tolerance of wild rice seeds［J］．*J Exper Bot*，**43**：747—757

Liang Y，Sun WQ，2000．Desiccation tolerance of recalcitrant *Theobroma cacao* embryonic axes：the optimal drying rate and its physiological basis［J］．*J Exper Bot*，**51**：1911—1919

Liang Y，Sun WQ，2002．Rate of dehydration and cumulative desiccation stress interacted to modulate desiccation tolerance of recalcitrant *Cocoa* and *Ginkgo* embryonic tissues［J］．*Plant Physiol*，**128**：1323—1331

Lu WJ（陆旺金），Fu JR（傅家瑞），1997．The induction of desiccation tolerance in wapee（*Clausena lansium* Skeels）embryonic axes［J］．*Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*（中山大学学报自然科学版），**36**（4）：118—120

McCarty DR，Carson CB，1991．The molecular genetics of seeds maturation in maize［J］．*Physiol Plantar*，**81**：267—272

Mundy J，Chua NH，1988．Abscisic acid and water-stress induce the expression of a novel rice gene［J］．*The EMBO J*，**7**：2279—2286

Obendorf RL，Dickerman AM，Pflum TM *et al.*，1998．Drying rate alters soluble carbohydrates，desiccation tolerance，and subsequent seedling growth of soybean（*Glycine max* L．Merrill）zygotic embryos during in vitro maturation［J］．*Plant Sci*，**132**：1—12

Obroucheva NV，Antipova OV，2004．The role of water uptake in the transition of recalcitrant seeds from dormancy to germination［J］．*Russian J Plant Physiol*，**51**：848—856

Ooms JJJ，Wilmer JA，Karssen CM，1994a．Carbohydrates are not the solefactor determining desiccation tolerance in seeds of *Arabidopsis thaliana*［J］．*Physiol Plantar*，**90**：431—436

Ooms JJJ，van der Veen R，Karssen CM，1994b．Abscisic acid and osmotic stress or slow drying independently induce desiccation tolerance in mutant of *Arabidopsis thaliana*［J］．*Physiol Plantar*，**92**：506—510

Pammenter NW，Berjak P，1999．A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms［J］．*Seed Sci Res*，**9**：13—37

Pammenter NW，Greggains V，Kioko JI *et al.*，1998．Effects of differential drying rates on viability retention of recalcitrant seeds *Ekebergia capensis*［J］．*Seed Sci Res*，**8**：463—471

Paul J，1989．Fitzgerald Plant Germplasm—An Essential Resources in Our Future［A］．In：Stalker HT，Chapman C，eds．Scientific Managimint of Germplasm：Charactorization，Evolution and Enhancement［M］．Rome：International Board for Plant Genetic Resources

Pan XB（潘学彪），Dong GC（董桂春），Gu MH（顾铭洪），1988．Primary study on storage traits of rice varities［J］．*China Seeds*（中国种业），**1988**（No.4）：34—36

Peng YF（彭业芳），Fu JR（傅家瑞），1994a．Advances in recalcitrant seed research［J］．*Biolog J*（生物学杂志），（62）：1—3

Peng YF（彭业芳），Fu JR（傅家瑞），1994b．Seed germinability and desiccation tolerance of lychee and longan during seed development［J］．*Seed*（种子），**1994**：1—5

Poulsen K，1996．Case Study：Neem（*Azadiracta indica* A．Juss）Seed Research［A］．In：Ouedraogo AS，Poulsen K，Stubsgarrd F eds，Intermediate Recalcitrant Tropical forest Tree Seeds［M］．Rome：International Plant Genetic Resources Institute，14—26

Pritchard HW，Daws MI，Fletcher BJ *et al.*，2004．Ecological correlates of seed desiccation in tropical African dryland trees［J］．*Amer J Bot*，**91**：863—870

Probert RJ, Longley PL, 1989 . Recalcitrant seed storage physiology in three aquatic grasses (*Zizania palustris*, *Spartina angelica*, and *Porteresia coarctata*) [J] . *Ann Bot*, **63**: 53—63

Roberts EH, 1961 . The Viability of rice seed in relation to temperature, moisture content, and gaseous environment [J] . *Ann Bot*, **25**: 381—390

Roberts EH, 1972 . Storage environment and the control of viability [A] . In: Roberts EH eds, Viability of Seeds [M] . Chapman and Hall LTD, 14—58

Roberts EH, 1973 . Predicting the storage life of seeds [J] . *Seed Sci Techonol*, **1**: 499—514

Roberts EH, 1975 . Problems of Long-term Storage of Seed and Pollen for Genetic Resources Conservation [A] . In: Frankel OH, Hawkes JG eds, Crop Genetic Resources for Today and Tomorrow [M] . London: Cambridge University Press, 269—294

Roberts EH, Abdalla F, 1968 . The influence of temperature, moisture, and Oxygen on period of seed viability in barley, broad beans and pea [J] . *Ann Bot*, **32**: 97—117

Roberts EH, King MW, 1980 . The Characteristics of Recalcitrant Seeds [A] . In: Chin HF, Roberts EH eds, Recalcitrant Crop Seeds [M] . Kuala Lumpur: Tropical Press SDN . BHD, 1—5

Russom Z, 1983 . Effect of storing period and type of storage on seed germination of American, Indonesian soybean lines and their crosses [J] . *Oleagineux*, **38**: 439—443

Sacandé M, 2000 . Stress, storage and survival of neem seed (PhD thesis) [D] . The Netherlands: Wageninger University

Sacandé M, Hoekstra FA, van Pijlen JG *et al.*, 1998 . A mulitifactorial study of conditions influencing longevity of neem (*Azadirachta indica*) seeds [J] . *Seed Sci Res*, **8**: 473—482

Sasaki S, 1980 . Storage and germination of Dipterocarp seeds [J] . *Malaysia Forester*, **43**: 290—308

Song SQ (宋松泉), Fu JR (傅家瑞), Chen RZ (陈润政), 1994 . Advances in recalcitrant seed research [J] . *Chin Bull Bot* (植物学通报), **11** (Suppl): 1—8

Song SQ, Berjak P, Pammenter N *et al.*, 2003 . Seed Recalcitrant: a Current Assement [J] . *Acta Bot Sin*, **45** (6): 638—643

Song SQ (宋松泉), Long CL (龙春林), Yin SH (殷寿华) *et al.*, 2004 . Desiccation behaviour of seeds and their molecular mechanisms [J] . *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), **25**: 465—479

Steaman KJ, Pritchard HW, Dey PM, 1996 . Tissue-specific soluble sugars in seeds as indicators of storage category [J] . *Ann Bot*, **77**: 667—674

Suszka B, 1971 - 1974 . Studies on the long-term storage of acorns [C] . Kornik, Poland: Annual Repotrs 1971 - 1974, Polish Academy of Science, Institute of Dendrology

Tang AJ (唐安军), Long CL (龙春林), Dao ZL (刀志灵), 2004 . Molecular mechanisms and storage technologies of recalcitrant seeds [J] . *Acta Bot Boreali-Occident Sin* (西北植物学报), **24**: 2170—2176

Tao JL (陶嘉龄), 1986 . Seedbank Management and Seed Storage [M] . IBPGR & CAAS, 1—70

Tao JL (陶嘉龄), Zheng GH (郑光华), 1990 . Seed Vigour [M] . Beijing: Science Press, 1—262

Tompsett PB, 1983 . The influence of gaseous environment on the storage life of *Araucaria hunsteinii* seed [J] . *Ann Bot*, **52**: 229—237

Tompsett PB, 1984 . Desiccation studies in relation to the storage of *Araucaria* seeds [J] . *Ann Appl Biol*, **105**: 581—583

Tompsett PB, 1994 . Capture of Genetic Resources by Collection and Storage of Seed: A Physiological Appoch [A] . In: Leakey RRB, Newton AC eds, Tropical Trees: the Potential for Domestication and the Rebuilding of Forest Resources [M] . HMSO, Landon, 61—71

Tompsett PB, Pritchard HW, 1998 . The effect of chilling and moisture status on the germination, desiccation tolerance and longevity of *Aesculus hippocastanum* L . seed [J] . *Ann Bot*, **82**: 249—261

Tweddle JC, Dickie JB, Baskin CC *et al.*, 2003 . Ecological aspects of seed desiccation sensitivity [J] . *J Ecol*, **91**: 294—304

Vasquez N, Salazar K, Anthony F *et al.*, 2005 . Variability in response of seed to liquid nitrogen exposure in wild coffea (*Coffea arabica* L .) [J] . *Seed Sci Technol*, **33**: 293—301

Vertucci CW, Crane J, Porter RA *et al.*, 1995 . Survival of *Zizania embryos* in relation to water content, temperature and maturity status [J] . *Seed Sci Res*, **5**: 31—40

Waters C, Pammenter NW, Berjak P *et al.*, 2001 . Desiccation damage, accelerate ageing and respiration in desiccation tolerant and sensitive seeds [J] . *Seed Sci Res*, **11**: 135—148

Wen B, Song SQ, 2007a . Acquisition of cryotolerance in maize embryos during seed development [J] . *Cryoletters*, **28**: 109—118

Wen B, Song SQ, 2007b . Acquisition and loss of cryotolerance in *Livistona chinensis* embryos during seed development [J] . *Cryoletters*, **28**: 291—302

Wesley-Smith J, Pammenter NW, Berjak P *et al.*, 2001 . The effects of two drying rates on the desiccation tolerance of embryonic axes of recalcitrant Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lamk .) seeds [J] . *Ann Bot*, **88**: 653—664

Wien HC, Kueneman EA, 1981 . Soybean seed deterioration in the tropics . II . Varietal differences and techniques for screening [J] . *Field Crop Res*, **4**: 123—132

Wu XJ (伍贤进), Song SQ (宋松泉), Zhang SP (张素平) *et al.*, 2002 . Formation of desiccation tolerance and germinability during development of *Zea may* L . Seeds [J] . *J Trop Subtrop Bot* (热带亚热带植物学报), **10** (2): 177—182

Wu XJ (伍贤进), Tian XR (田向荣), Fu JR (傅家瑞), 2003 . Seed desiccation tolerance and the evolution and ecological fratures of recalcitrant seeds [J] . *J Huanhua Univ* (怀化学院学报), **22**: 52—55

Yang QH (杨期和), Yin XJ (尹小娟), Ye WH (叶万辉) *et al.*, 2006 . Biological characteristics of recalcitrant-type seeds and evolution of seed recalcitrance [J] . *Chin J Ecol* (生态学杂志), **25**: 79—86

Yap SK, 1981 . Collection, germination and storage of *Dipterocarp* seeds [J] . *Malaysia Forester*, **44**: 281—300